

Identification of Thraustochytrids from Mangrove Forest of Tidung Island, Kepulauan Seribu, Jakarta

Ranti An Nisaa¹, Andri Hutari^{1*}, Walidah Awaliah¹, Renna Permatasari¹, Muhammad Luqman Ar Rasyid¹

¹Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka, Jakarta, Indonesia;

Article History

Received : September 03th, 2025

Revised : December 03th, 2025

Accepted : December 05th, 2025

*Corresponding Author: **Andri Hutari**, Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka, Jakarta, Indonesia;
Email: andrihutari@uhamka.ac.id

Abstract: Thraustochytrids are often called heterotrophic microalgae that have a lot of omega-3 docosahexaenoic acid, or DHA. These microbes are found in many mangrove forest areas, including Indonesia, which has the biggest mangrove forests in the world. Indonesia is also beginning to look for useful microbes in these environments. The goal of this study was to find and identify a type of Thraustochytrid called *Aurantiochytrium* sp. in the mangrove forests of Tidung Island, part of the Thousand Islands near Jakarta. This area has never been studied for this type of microbe before. The study found two isolates of Thraustochytrids, named *Aurantiochytrium* sp. PTD5 and PTD6. These were identified by looking at the phylogenetic tree made from 18S rRNA sequences. The phylogenetic tree shows that PTD5 and PTD6 are closely related to other *Aurantiochytrium* strains like SR21 and BL10, which are widely used in research for making omega-3 DHA lipids.

Keywords: *Aurantiochytrium* sp., mangrove forest; phylogenetic analysis; Thraustochytrids, Tidung Island.

Pendahuluan

Hutan mangrove menyimpan kekayaan biodiversitas mikroba potensial yang berguna dalam industri bioteknologi (Thatoi et al., 2013). Beberapa mikroba yang terdapat di hutan mangrove, mikroalga heterotrofik *Aurantiochytrium* sp. telah menarik perhatian banyak peneliti untuk mengisolasi dan mengeksploitasinya dalam dua dekade terakhir (Aasen et al., 2016; Jaritkhuan & Suanjit, 2018; Kalidasan et al., 2021; Sirirak et al., 2020).

Mikroalga heterotrofik dari genus *Aurantiochytrium* asal hutan mangrove telah banyak dieksploitasi untuk kegunaan pakan ternak (Moran et al., 2018), produksi asam lemak omega-3 DHA (Aini et al., 2022; Wang et al., 2018), produksi squalene (Otagiri et al., 2017; Patel et al., 2019), dan karotenoid (Carmona et al., 2014). Mikroalga

Aurantiochytrium sp. asal hutan mangrove pulau Pari, kepulauan Seribu, Jakarta sudah pernah dilaporkan (Hutari et al., 2022).

Namun demikian, isolasi dari pulau lain di kepulauan Seribu belum pernah dilaporkan dan belum dianalisis pohon kekerabatannya dengan spesies lain yang telah ditemukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengidentifikasi dan menganalisis pohon kekerabatan mikroalga heterotrofik asal hutan mangrove pulau Tidung, Jakarta.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi yang komprehensif tentang kelimpahan, manfaat, dan analisis kekerabatan dari mikroalga *Aurantiochytrium* sp. yang diisolasi dari hutan mangrove pulau Tidung, Jakarta. Isolat *Aurantiochytrium* sp. Yang didapatkan akan dijadikan *Master Cell Bank* untuk digunakan lebih lanjut dalam produksi komponen nutrasetikal dan farmasetikal yang bernilai ekonomi tinggi.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat

Penelitian ini dilakukan dari bulan Januari hingga Maret 2023 di area hutan mangrove di Pulau Tidung, Jakarta, serta di laboratorium pendidikan biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka (UHAMKA) Jakarta. Daun mangrove yang berwarna oranye dan tenggelam di dasar air perairan mangrove digunakan untuk mengisolasi spesies *Aurantiochytrium* sp. dari daun tersebut.

Desain penelitian

Mikroalga *Aurantiochytrium* sp. diisolasi dari hutan bakau pulau Seribu menggunakan metode *direct plating*. Setelah mendapatkan isolate murni kedua jenis mikroalga tersebut diekstrak genomnya. Identifikasi molekuler untuk spesies *Aurantiochytrium* sp. merujuk kepada metode yang dilaporkan oleh Jaritkhuan & Suanjit (2018).

Populasi dan sampel

Populasi berupa seluruh daun yang terjatuh di sekitar pohon mangrove di kawasan hutan mangrove pulau Tidung. Pengambilan sampel daun mangrove yang terendam di dasar permukaan sedimen hutan mangrove dilakukan secara acak menggunakan metode jelajah. Hanya daun yang berwarna oranye dan memiliki tekstur lembut yang diambil sebagai sampel. Setelah diambil, sampel disimpan dalam wadah yang berisi air laut dan diberi segel untuk mencegah kontaminasi.

Alat-alat yang dibutuhkan meliputi klem plastik berukuran 10x15 cm, kabinet aliran udara laminar, lampu UV, shaker orbital (DLAB) tipe SK-0330-Pro, cawan petri sekali pakai, gelas ukur Pyrex berkapasitas 250 ml, gelas beaker IWAKI berkapasitas 500 ml, labu Erlenmeyer IWAKI berkapasitas 250 ml, pinset stainless steel, bunsen, autoklaf, timbangan neraca OHAUS, vortexer DLAB tipe MX-S, mikroskop Olympus BX43, sentrifuge DLAB, mikrotube, pipet berkapasitas 200 mikroliter, kit purifikasi DNA genomik Wizard Promega 10, kamera mikroskop USB, dan perangkat lunak (AmScope).

Bahan yang digunakan terdiri dari air laut, sampel daun bakau yaitu *Rhizophora stylosa*, agar bakteriologi (Oxoid), glukosa (Himedia), ekstrak yeast (Himedia), air aquades, garam reef, aluminium foil, kapas kassa, cryovial (Corning) gliserol (Merck), parafilm (M), medium agar padat dengan komposisi agarose 15 gram per liter, ekstrak yeast 4 gram per liter, garam laut 3 gram per liter, dan dextrose 10 gram per liter, media cair *pre-culture* pertama dengan komposisi dextrose 15 gram per liter, ekstrak yeast 5 gram per liter, garam laut 7,2 gram per liter menggunakan 500 mL aquades, serta media cair *pre-culture* kedua dengan komposisi dextrose 20 gram per liter, ekstrak yeast 10 gram per liter, garam laut 7,2 gram per liter menggunakan 1000 mL aquades.

Prosedur penelitian

Isolasi Mikroalga

Isolasi khamir *Aurantiochytrium* sp. dalam penelitian ini dilakukan dengan metode *direct plating* seperti yang telah dilakukan oleh Takahashi *et al.*, (2019). Metode ini melibatkan penanaman daun mangrove ke dalam media agar. Media agar dituangkan ke dalam *petridish* secara merata. Sampel daun mangrove dipotong menjadi bentuk persegi dengan ukuran 2 cm, lalu ditempelkan secara steril pada permukaan media agar. Keberadaan serta keragaman mikroalga diamati menggunakan mikroskop cahaya. Proses isolasi terus dilakukan hingga diperoleh isolat murni dari mikroalga *Aurantiochytrium* sp.. Morfologi yang diperhatikan mencakup bentuk dan ukuran sel, bentuk kloroplas, jenis reproduksi, serta struktur spesifik seperti bintik mata, yang digunakan sebagai dasar dalam menentukan karakteristik spesies tersebut (Abdullah & Sembiring, 2009).

Isolat murni *Aurantiochytrium* sp. diamati menggunakan mikroskop cahaya (Olympus BX43) setelah dua hari plating langsung. Untuk memastikan bahwa isolat yang diperoleh termasuk genus *Aurantiochytrium*, dilakukan identifikasi sekuens bagian dari 18S rRNA dengan metode yang telah diteliti oleh Jaseera *et al.*, (2019).

Isolat murni *Aurantiochytrium* sp. yang berhasil diperoleh dikultur dalam labu Erlenmeyer 250 ml menggunakan medium AYA broth sesuai komposisi yang ditentukan oleh Nisaa *et al.*, (2022). Fermentasi dilakukan selama

2 hari dengan suhu ruangan dan kecepatan pengadukan 200 rpm.n. Setelah itu, 1,5 ml dari kultur *Aurantiochytrium* sp. yang telah dikultur selama 2 hari tersebut ditambahkan 300 µl gliserol (Merck), lalu dimasukkan ke dalam cryovial steril 2 ml (Corning) dan disimpan pada suhu -20°C atau lebih dingin lagi. Analisis filogenetik mikroalga *Aurantiochytrium* sp. dilakukan menggunakan perangkat MEGA 11.

Identifikasi Morfologi

Isolat mikroalga yang diambil dari daun bakau kemudian dilanjutkan dengan tahap identifikasi morfologi melalui pengamatan menggunakan mikroskop. Isolat mikroalga tersebut diambil dengan menggunakan satu jarum ose, lalu ditempatkan di *object glass* yang telah ditetesi aquades, kemudian ditutup dengan *cover glass*. Sampel tersebut kemudian diamati menggunakan mikroskop OLYMPUS dengan perbesaran 10x, 40x, dan 100x. Mikroskop tersebut dilengkapi dengan kamera yang terhubung dengan aplikasi Toup View 3.7 untuk Digital Camera. Pada tahap identifikasi morfologi, dilihat karakteristik dan bentuk sel mikroalga, seperti bentuk bulat, memanjang, tidak beraturan, berkumpul dalam koloni atau berbentuk tunggal, adanya zoospora, serta sifat berlendir atau tidak berlendir (Purbani *et al.*, 2019). Hasil pengamatan tersebut kemudian diklarifikasi menggunakan metode analisis berupa buku identifikasi (Barsanti & Gualtieri, 2014).

Identifikasi Molekuler

Proses identifikasi molekuler mencakup beberapa tahap, yaitu isolasi DNA, amplifikasi DNA, purifikasi DNA, dan sekuensing. Pada tahap awal, isolasi DNA mikroalga dilakukan sesuai dengan panduan teknik manual Wizard Genomic DNA Purification Kit (Promega Corporation, 2019). Langkah isolasi DNA dimulai dengan menambahkan biomassa basah ke dalam tabung sentrifugal berkapasitas 1,5 ml, lalu ditambahkan 600 µl larutan lisis nukleid. Sampel kemudian dikocok selama 3 detik hingga biomassa tercampur rata dengan larutan. Setelah itu, sampel dinkubasi dalam air panas pada suhu 65°C selama 15 menit.

Sampel ditambahkan 3 µl larutan RNase untuk menghancurkan sel, lalu dicampur dengan membolak-balikkan tabung sebanyak 5 kali.

Setelah itu, sampel dipanaskan kembali di dalam air panas berpendingin dengan suhu 37°C selama 15 menit. Langkah berikutnya, tambahkan 200 µl larutan presipitasi protein, lalu dikocok selama 20 detik menggunakan vortex. Setelah itu, sampel disentrifugasi dengan kecepatan 16.000xg selama 3 menit agar cairan di atas (supernatan) dan bagian padat (biomassa) terpisah. Supernatan yang terpisah dari biomassa diambil menggunakan pipet Eppendorf 200 µl, lalu dimasukkan ke dalam tabung sentrifugasi berkapasitas 1,5 ml yang berisi 600 µl isopropanol.

Sentrifugasi 16.000xg selama 1 menit, lalu cuci pellet dengan etanol 70% bolak-balikkan tabung sebanyak 3 kali, sentrifugasi 16.000xg selama 1 menit. Ambil etanol dengan pipettip. Balikkan *tube* di atas tissue hingga *tube* yang masih terdapat sisa etanol kering. Proses selanjutnya, tambahkan larutan 100 µl larutan rehidrasi DNA dan inkubasi selama 1 jam dengan suhu 65°C.

Langkah berikutnya, hasil DNA yang telah diisolasi dilakukan reaksi PCR menggunakan primer 18S-rRNA. Prosesnya terdiri dari predenaturasi dan denaturasi pada suhu 95°C selama 2 menit, annealing pada suhu 57°C selama 0,75 menit, extension pada suhu 72°C selama 1,3 menit, serta final extension pada suhu 72°C selama 5 menit. Untuk memastikan hasil isolasi DNA, produk PCR kemudian dianalisis dengan metode elektroforesis gel agarose 1% w/v, yaitu dengan mencairkan 0,5 gram agarose dalam 50 mL TAE.

Analisis data

Data yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan pendekatan bioinformatika dengan software *Basic Local Alignment Search Tools* (BLAST) dari *National Center for Biotechnology* (NCBI). *Software* ini dapat diakses melalui *website*

https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&BLAST_SPEC=GeoBlast&PAGE_TYPE=BlastSearch, seperti yang telah dilakukan oleh Wangiyana (2022).

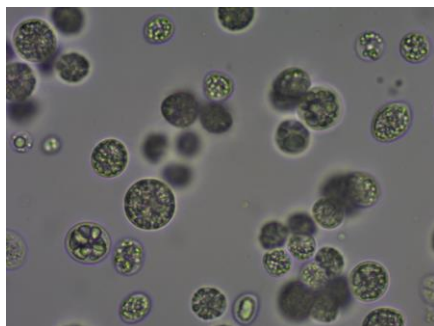
Hasil sekuensing dianalisis untuk mengetahui hubungan kekerabatan dari mikroalga Thraustorchytrids *Aurantiochytrium* sp. yang diperoleh dari isolasi daun bakau. Data sekuensing juga menggunakan strain mikroalga Thraustorchytrids *Aurantiochytrium* sp. yang

sama yang tersedia di GenBank NCBI. Analisis hubungan kekerabatan dilakukan dengan membuat pohon filogenetik menggunakan software *Molecular Evolutionary Genetic Analysis X* (MEGA X). Analisis pohon filogenetik tersebut merujuk pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya.

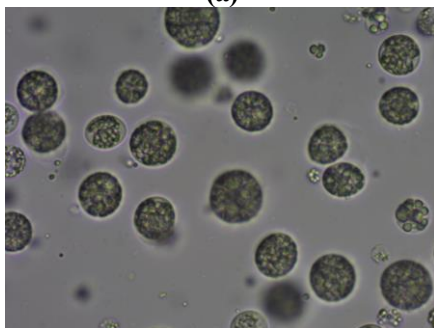
Hasil dan Pembahasan

Filogenetik Mikroalga Mangrove

Hasil dari analisis filogenetik yang didapat dari dua jenis isolat daun bakau mangrove yaitu PTD5 dan PTD6 menunjukkan bahwa isolat yang telah dikenali masuk ke dalam kelompok *Aurantiochytrium* sp. Mikroalga dari keluarga Thraustochytrid ditemukan di wilayah perairan laut Pulau Tidung, Kepulauan Seribu. Gambar 2 menampilkan pohon evolusi yang terbentuk dari isolat mikroalga secara monofiletik, yang menunjukkan hubungan kekerabatan yang dekat serta jalur perkembangan sejarah evolusi mereka.



(a)



(b)

Gambar 1. *Aurantiochytrium* sp. PTD5 (a) dan *Aurantiochytrium* sp. PTD6 (b)

Klad I terdiri dari beberapa jenis mikroalga, yaitu *Aurantiochytrium* sp. SD116, *Aurantiochytrium mangrovei* TSKK7, *Aurantiochytrium mangrovei* Sk02,

Aurantiochytrium sp. LR52, *Aurantiochytrium* sp. LA21, *Thraustochytrium* sp. TR1.4, *Thraustochytriidae* sp. ANACC TC 020, *Thraustochytrium* sp. ONC-T18, *Thraustochytriidae* sp. T66, *Thraustochytriidae* sp. N1-27, *Schizochytrium* sp. KH105, dan *Thraustochytrium* sp. ATCC 26185. Klad II merupakan isolat dari PTD6 yang terdiri dari *Aurantiochytrium limacinum* NIBH SR21, *Aurantiochytrium acetophilum* SW1, *Schizochytrium mangrovei* PQ6, dan *Thraustochytrium* sp. CHN-1. Isolat PTD5 pada Klad III terdiri dari mikroalga *Aurantiochytrium* sp. BL10, *Schizochytrium limacinum* isolate OUC174, *Schizochytrium* sp. SW1, *Aurantiochytrium* sp. B072, *Schizochytrium mangrovei*, *Aurantiochytrium* sp. LA22, dan *Aurantiochytrium* sp. LR60. Klad IV terdiri dari jenis mikroalga yaitu *Thraustochytriidae* sp. NIOS-4, *Schizochytrium* sp. ATCC 20888, serta *Bicosoeca petiolata* ATCC 50639.

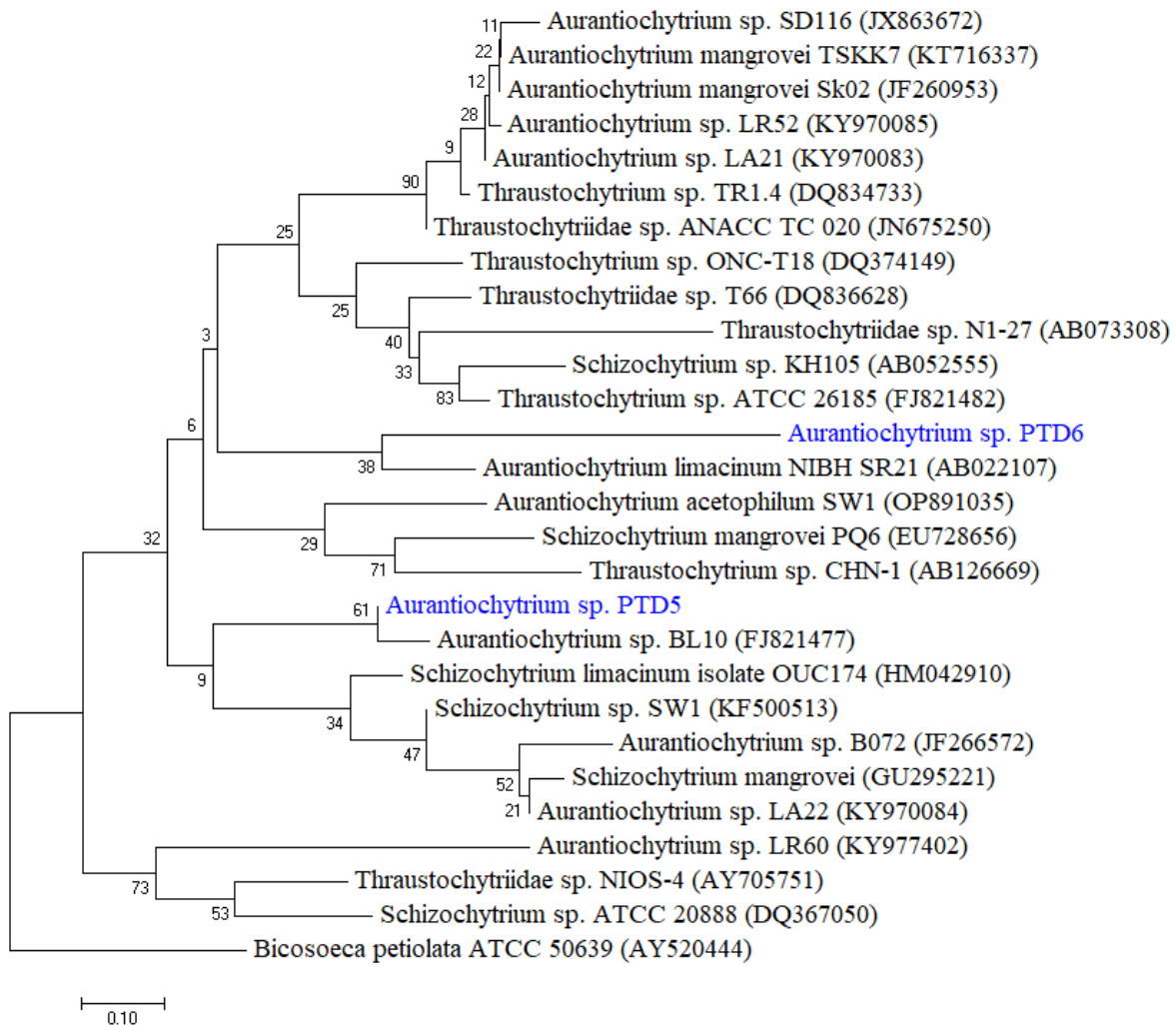
Mikroalga yang dianalisis secara filogenetik tersebut masuk ke dalam keluarga Thraustochytrid dengan tingkat persentase homologi sebesar 99%. *Aurantiochytrium* sp. adalah jenis mikroalga yang heterotropik, bersel tunggal, dan termasuk dalam eukariot. Mikroalga ini mampu menghasilkan zoospora untuk proses pertumbuhan secara vegetatif. Selain itu, mikroalga ini juga bisa menghasilkan lemak berupa DHA (C22: n-3) dengan kadar mencapai 50 hingga 80% dari berat kering biomassa yang dimilikinya.

Pembahasan

Identifikasi sekuens parsial 18S rRNA dilakukan dengan metode yang digunakan oleh Jaseera et al. (2019) agar dapat memastikan bahwa isolat yang diperoleh benar-benar berasal dari genus *Aurantiochytrium*. Morfologi isolat murni Thraustochytrids *Aurantiochytrium* sp. PTD5 dan PTD6 (Gambar 1a dan 1b) sesuai dengan morfologi *Aurantiochytrium* sp. yang telah dilaporkan oleh Jaritkhuan & Suanjit, (2018). Ciri khas dari *Aurantiochytrium* sp. adalah bentuk sel yang bulat atau lonjong, dengan ukuran yang berbeda-beda tergantung pada tahap perkembangan sel tersebut, di mana ukuran diameter terkecil sekitar 2-3 mikrometer sedangkan ukuran terbesar bisa mencapai hingga 50 mikrometer (Sirirak et al., 2020).

Pohon filogenetik memberikan gambaran susunan suatu spesies yang berkerabat dalam bentuk pohon yang bercabang (Anafarida & Badruzsaufari, 2020). Dari hasil analisis

filogenetik dapat diketahui bahwa pohon filogenetik terbagi menjadi 4 kelompok keturunan atau klad yang berasal dari nenek moyang yang sama (Dharmayanti, 2011).



Gambar 2. Pohon Filogenetik Isolat Mikroalga *Aurantiochytrium* dari Daun Bakau Hutan Mangrove, Pulau Tidung, Kepulauan Seribu Berdasarkan Sekuen Gen 18S rRNA

Garis pada pohon filogenetik menunjukkan hubungan kekerabatan yang dekat dan jarak evolusi antar spesies, serta kesamaan nenek moyang dari suatu kelompok. Jarak antar pohon menandai sejauh mana evolusi terjadi pada suatu spesies, semakin panjang garisnya, semakin jauh pula evolusinya dan karakter spesies tersebut semakin berkembang. Sebaliknya, jarak yang semakin pendek menggambarkan karakter spesies yang lebih primitif (Oktafia & Badruzsaufari, 2021). Dari pohon filogenetik pada Gambar 2 terlihat bahwa

garis yang terbentuk antar spesies tergolong panjang dan dianggap dekat dengan *Thraustochytrid*.

Strain *Thraustochytrium* sp. dari Klad I memiliki kemampuan menghasilkan DHA dan karotenoid terutama astaxanthin. Sementara *Thraustochytrium* sp. CHN-1 dari Klad II menghasilkan astaxanthin yang cukup besar bagi skala pabrik sehingga sangat bermanfaat di bidang industri (Carmona *et al.*, 2014). Spesies dari kedua Klad ini memiliki jarak kekerabatan dan evolusi yang cukup dekat yang dibuktikan

dengan tiap garis filogenetik pendek terdiri dari spesies dari genus *Aurantiochytrium*, genus *Thraustochytrium*, dan genus *Schizochytrium*.

Aurantiochytrium acetophilum SW1 yang merupakan bagian dari Klad II isolate dari PTD6 diketahui memiliki tingkat toleransi tinggi terhadap toksisitas asetat dan umumnya digunakan sebagai substrat yang mengandung karbon (Ganuza et al., 2019). Bahkan pada penelitian Prabhakaran et al. (2022), *Aurantiochytrium* sp. SW1 diketahui gen terbanyaknya memiliki fungsi untuk metabolisme lipid sebanyak 321 gen, metabolisme karbohidrat 290 gen, metabolisme kofaktor dan vitamin 197 gen, dan metabolisme asam amina 188 gen. *Aurantiochytrium* sp. PTD6 yang berkerabat ini berpotensi memiliki gen dengan sifat yang sama.

Aurantiochytrium sp. isolate PTD6 berkerabat dengan mikroalga dari genus *Schizochytrium* sebanyak 3 spesies pada Klad III. *Schizochytrium* diketahui dimanfaatkan untuk vaksin influenza yang sangat imunoprotektif karena memiliki tingkat biosintesis tinggi serta pertumbuhan cepat pada media kultur berbiaya rendah (Ramos-Vega et al., 2018). Genus *Schizochytrium* yang terdapat di keempat Klad diketahui bisa menghasilkan DHA melalui proses fermentasi (Wang et al., 2018).

Klad IV hanya memiliki 3 anggota kerabat yakni dari famili *Thraustochytriidae* sp., spesies *Schizochytrium* sp., dan spesies *Bicosoeca petiolata*. Jarak yang jauh dengan *Aurantiochytrium* sp. isolate PTD6 dan PTD5 menunjukkan jarak evolusi yang cukup jauh. Hal ini terlihat dari adanya perbedaan morfologi terutama dari genus *Bicosoeca*. Genus ini memiliki bentuk sel seperti lonceng, membentuk koloni, memiliki alat gerak flagel, dan habitat di air tawar sebaliknya *Aurantiochytrium* bentuk selnya bulat atau oval, soliter, tidak memiliki flagel, dan habitat di air laut (Jeuck & Arndt, 2013).

Kesimpulan

Isolat *Thraustochytrid Aurantiochytrium* sp. PTD5 dan PTD6 mengonfirmasi adanya spesies ini di satu hutan mangrove di Indonesia, yaitu hutan mangrove Pulau Tidung, Jakarta. Kedua isolat ini sangat mirip dengan spesies

Aurantiochytrium sp. yang sudah banyak digunakan secara komersial untuk produksi lipid omega-3 DHA. Hal ini menunjukkan bahwa isolat dari hutan mangrove Indonesia memiliki potensi untuk diterapkan lebih luas lagi, terutama dengan adanya kemudahan akses teknologi bagi para peneliti dan industri dalam melakukan bioprospeksi spesies *Thraustochytrid Aurantiochytrium* sp.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih atas dana yang diberikan oleh Direktur Riset Muhammadiyah (RisetMu) Majelis Pendidikan Tinggi, Penelitian dan Pengembangan Pimpinan Pusat Muhammadiyah serta partisipasi dan kerja sama dari tim peneliti yang berasal dari Pulau Tidung, Kepulauan Seribu.

Referensi

- Aasen, I. M., Ertesvåg, H., Heggeset, T. M. B., Liu, B., Brautaset, T., Vadstein, O., & Ellingsen, T. E. (2016). *Thraustochytrids As Production Organisms For Docosahexaenoic Acid (DHA), Squalene, and Carotenoids. Applied Microbiology and Biotechnology 2016 100:10, 100(10), 4309–4321.*
<https://doi.org/10.1007/S00253-016-7498-4>
- Abdullah, M. M., & Sembiring, L. (2009). Deteksi, Karakterisasi, dan Identifikasi Mikroalga Kontaminan Pada Polimer Emulsi Berbasis Polivinil Asetat (PVA). *Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan Dan Penerapan MIPA, Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta*, 130–136.
<https://fileserver.core.ac.uk/pdf/pdf/33509911.pdf>
- Aini, U. N., Lunprom, S., Reungsang, A., & Salakkam, A. (2022). Docosahexaenoic Acid (DHA) Production by *Aurantiochytrium limacinum* Using Cassava Pulp Hydrolysate as an Alternative Low-Cost Carbon Source. *Frontiers in Marine Science*, 9(August), 1–14.
<https://doi.org/10.3389/fmars.2022.985119>

- Anafarida, O., & Badruzsaufari. (2020). Analisis Filogenetik Mangga (*Mangifera* SPP.) Berdasarkan Gen 5,8S RRNA. *ZIRAA'AH MAJALAH ILMIAH PERTANIAN*, 45(2), 120–126.
<https://doi.org/10.31602/ZMIP.V45I2.3001>
- Barsanti, L., & Gualtieri, P. (2014). Algae Utilization. In *Algae*.
<https://doi.org/10.1201/b16544-10>
- Carmona, M. L., Naganuma, T., & Yamaoka, Y. (2014). Identification by HPLC-MS of Carotenoids of the Thraustochytrium CHN-1 Strain Isolated from the Seto Inland Sea. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 67(4), 884–888.
<https://doi.org/10.1271/BBB.67.884>
- Dharmayanti, N. L. P. I. (2011). Filogenetika Molekuler: Metode Taksonomi Organisme Berdasarkan Sejarah Evolusi. *Wartazoa*, 21(1), 1–10.
- Ganuza, E., Yang, S., Amezquita, M., Giraldo-Silva, A., & Andersen, R. A. (2019). Genomics, Biology and Phylogeny *Aurantiochytrium acetophilum* sp. nov. (Thraustochytriaceae), Including First Evidence of Sexual Reproduction. *Protist*, 170(2), 209–232.
<https://doi.org/10.1016/j.protis.2019.02.004>
- Hutari, A., An Nisaa, R., Suhendra, S., Agustin, Y., & Ayunda, K. A. (2022). Exploration Of High Economic Value Microalgae in The Mangrove Area Of Pari Island, Seribu Islands, Jakarta. *Jurnal Pembelajaran Dan Biologi Nukleus*, 8(3), 662–672.
<https://doi.org/10.36987/jpbn.v8i3.3096>
- Jaritkhuan, S., & Suanjit, S. (2018). Species Diversity and Polyunsaturated Fatty Acid Content of Thraustochytrids From Fallen Mangrove Leaves in Chon Buri Province, Thailand. *Agriculture and Natural Resources*, 52(1), 24–32.
<https://doi.org/10.1016/J.ANRES.2018.05.002>
- Jaseera, K. V., Kaladharan, P., Vijayan, K. K., Sandhya, S. V., Antony, M. L., & Pradeep, M. A. (2019). Isolation and Phylogenetic Identification of Heterotrophic Thraustochytrids From Mangrove Habitats Along The Southwest Coast of India and Prospecting Their PUFA Accumulation. *Journal of Applied Phycology*, 31(2), 1057–1068.
<https://doi.org/10.1007/s10811-018-1627-7>
- Jeuck, A., & Arndt, H. (2013). A Short Guide to Common Heterotrophic Flagellates of Freshwater Habitats Based on the Morphology of Living Organisms. *Protist*, 164(6), 842–860.
<https://doi.org/10.1016/J.PROTIS.2013.08.003>
- Kalidasan, K., Vinithkumar, N. V., Peter, D. M., Dharani, G., & Dufossé, L. (2021). Thraustochytrids of Mangrove Habitats from Andaman Islands: Species Diversity, PUFA Profiles and Biotechnological Potential. *Marine Drugs* 2021, Vol. 19, Page 571, 19(10), 571.
<https://doi.org/10.3390/MD19100571>
- Moran, C. A., Morlacchini, M., Keegan, J. D., & Fusconi, G. (2018). The Effect of Dietary Supplementation With *Aurantiochytrium limacinum* On Lactating Dairy Cows In Terms Of Animal Health, Productivity, and Milk Composition. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102(2), 576–590.
<https://doi.org/10.1111/JPN.12827>
- Oktafia, R. E., & Badruzsaufari. (2021). Analisis Filogenetik Garcinia Spp. Berdasarkan Sekuens Gen rRNA. *Ziraa'ah: Majalah Ilmiah Pertanian*, 46(2), 259–264.
<https://doi.org/10.31602/ZMIP.V46I2.4526>
- Otagiri, M., Khalid, A., Moriya, S., Osada, H., & Takahashi, S. (2017). Novel Squalene-Producing Thraustochytrids Found in Mangrove Water. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 81(10), 2034–2037.
<https://doi.org/10.1080/09168451.2017.1359485>
- Patel, A., Rova, U., Christakopoulos, P., & Matsakas, L. (2019). Simultaneous Production of DHA and Squalene from *Aurantiochytrium* sp. Grown on Forest Biomass Hydrolysates. *Biotechnology for Biofuels*, 12(1), 255.
<https://doi.org/10.1186/s13068-019-1593-6>
- Prabhakaran, P., Raethong, N., Nazir, Y., Halim, H., Yang, W., Vongsangnak, W., Hamid,

- A. A., & Song, Y. (2022). Whole Genome Analysis and Elucidation of Docosaehaenoic acid (DHA) Biosynthetic Pathway in *Aurantiochytrium* sp. SW1. *Gene*, 846, 146850. <https://doi.org/10.1016/J.GENE.2022.146850>
- Promega Corporation. (2019). Technical Manual Wizard® Genomic DNA Purification Kit Wizard® Genomic DNA Purification Kit. *Technical Bulletin*, 1–19.
- Purbani, D. C., Ambarwati, W., Kusuma, A. B., & Herliany, N. E. (2019). Identifikasi Mikroalga Laut Tambrau, Papua Barat. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis*, 11(3), 777–791. <https://doi.org/10.29244/jitkt.v11i3.25862>
- Ramos-Vega, A., Rosales-Mendoza, S., Bañuelos-Hernández, B., & Angulo, C. (2018). Prospects on the Use of *Schizochytrium* sp. to Develop Oral Vaccines. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2506. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02506>
- Sirirak, K., Suanjit, S., Powtongsook, S., & Jaritkhuan, S. (2020). Characterization and PUFA Production of *Aurantiochytrium limacinum* BUCHAXM 122 Isolated From Fallen Mangrove Leaves. *ScienceAsia*, 46(4), 403–411. <https://doi.org/10.2306/scienceasia1513-1874.2020.051>
- Takahashi, S., Yoshida, M., Watanabe, M. M., & Isoda, H. (2019). Anti-Inflammatory Effects of *Aurantiochytrium limacinum* 4W-1b Ethanol Extract on Murine Macrophage RAW264 Cells. *BioMed Research International*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/3104057>
- Thatoi, H., Behera, B. C., Mishra, R. R., & Dutta, S. K. (2013). Biodiversity and Biotechnological Potential of Microorganisms From Mangrove Ecosystems: A Review. *Annals of Microbiology*, 63(1), 1–19. <https://doi.org/10.1007/s13213-012-0442-7>
- Wang, Q., Ye, H., Sen, B., Xie, Y., He, Y., Park, S., & Wang, G. (2018). Improved Production of Docosaehaenoic Acid in Batch Fermentation by Newly-isolated Strains of *Schizochytrium* sp. and Thraustochytriidae sp. Through Bioprocess Optimization. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 3(2), 121–129. <https://doi.org/10.1016/J.SYNBIO.2018.04.001>
- Wangiyana, I. G. A. S. (2022). Rekonstruksi Filogenetik Dari Sekuen Maturase K *Gyrinops versteegii* Menggunakan Referensi Pencarian Megablast. *Jurnal Sangkareang Mataram*, 9(2), 19–24. <https://sangkareang.org/index.php/SANGKAREANG/article/view/478>